پژوهش‌های حبوبات ایران
جلد۱۰ شمارهٔ۱، نیمهٔ اوّل ۱۳۹۸، صفحهٔ ۱۵۴-۱۴۱
نوع مقاله: پژوهشی

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 10, No. 1, 2019, p. 141-154 (Research Article)
DOI: 10.22067/ijpr.v10i1.63836

تأثیر کود کمپوست بر خصوصیات فیزیولوژیکی و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاه عدس (*Lens culinaris* Medik) تحت تنش آبی

راحله احمدپور[۱]، نظام آرمند*[۲]، سعیدرضا حسین‌زاده[۳] و گرشاسب ریگی[۴]

۱- عضو هیئت علمی گروه زیست‌شناسی (مربی)، دانشکده علوم، دانشگاه صنعتی خاتم‌الأنبیاء، ahmadpour@bkatu.ac.ir
۲- عضو هیئت علمی (استادیار) گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه صنعتی خاتم‌الأنبیاء، armandnezam@yahoo.com
۳- دانش‌آموختهٔ دکتری گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران، hossinzadeh_tmu@yahoo.com
۴- عضو هیئت علمی گروه ژنتیک، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران، garshasbiotech@sku.ac.ir

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۲/۰۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۰۶/۱۸

چکیده

کودهای آلی نظیر کمپوست می‌تواند نقش مهمی در رشد و تغذیه گیاهان ایفا کند و به نظر می‌رسد استفاده از این کود می‌تواند اثرات منفی ناشی از تنش‌های محیطی را کاهش دهد. در این راستا، به منظور بررسی اثر کود کمپوست بر خصوصیات فیزیولوژیکی، فتوسنتزی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، محتوای پرولین و پروتئین محلول برگی گیاه عدس (رقم گچساران) در شرایط تنش کم‌آبی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط محیط گلخانه در سال ۱۳۹۵ به اجرا درآمد. تیمارهای آزمایش شامل پنج سطح از کمپوست و خاک (۱۰۰:۰، ۹۵:۵، ۸۵:۱۵، ۷۵:۲۵ و ۶۵:۳۵درصد وزنی) و سه سطح تنش کمبود آب بدون تنش (۷۵درصد ظرفیت زراعی)، تنش ملایم (۵۰درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۵درصد ظرفیت زراعی) بود. نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش استفاده از کمپوست در سطوح ۲۵ و ۳۵درصد وزنی موجب افزایش معنی‌دار محتوای آب نسبی، پایداری غشاء سلول‌های برگی، کارآیی فتوسیستمII، فتوسنتز خالص، CO_2 زیر روزنه، کارآیی مصرف آب، محتوای پروتئین و پرولین برگی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با شاهد شد. در شرایط تنش آبی ملایم و شدید، استفاده از مخلوط کمپوست و خاک با نسبت درصد وزنی (۶۵:۳۵) به ترتیب منجر به افزایش معنی‌دار محتوای آب نسبی (۳/۳درصد، ۶/۱۷درصد)، پایداری غشاء سلول (۵/۴درصد)، CO_2 زیر روزنه (۹/۳درصد)، فتوسنتز خالص (۶۵/۳درصد، ۵۸/۷۷درصد)، کارآیی مصرف آب (۱۲/۱۳درصد، ۲۲/۴۷درصد)، محتوای پرولین (در شرایط تنش ملایم حدود ۳درصد)، محتوای پروتئین کل (۱۸/۸درصد، ۷/۹درصد+)، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (۱۸/۹درصد، ۳/۷درصد)، کاتالاز (در شرایط تنش ملایم حدود ۳/۷درصد) و سوپراکسیددیسموتاز (۱/۳درصد، ۱۲/۵درصد) نسبت به سطوح شاهد شد. بر طبق نتایج این مطالعه، استفاده از کود کمپوست به‌ویژه در سطح ۳۵درصد وزنی به منظور بهبود شرایط تنش آبی در کشت گلدانی گیاه عدس توصیه می‌شود.

واژه‌های کلیدی: تنش‌های محیطی، فتوسنتز خالص، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، کودهای آلی

مقدمه

حبوبات بعد از غلات مهم‌ترین نقش را در تغذیه بشر داشته و به‌دلیل کمبود منابع پروتئین حیوانی، عمده نیاز پروتئین از منابع گیاهی خصوصاً حبوبات تأمین می‌شود (Parsa & Bagheri, 2008). عدس (*Lens culinaris* Medik) گیاهی یکساله و از خانواده‌ی حبوبات (Fabaceae) است که با داشتن ۱۸-۳۲درصد پروتئین، نقش مهمی در تأمین پروتئین مورد نیاز انسان دارد (Oweis *et al.*, 2005). کشورهای عمده تولیدکننده عدس به ترتیب هند، استرالیا، کانادا و ترکیه می‌باشند که در مجموع بیش از ۷۳درصد عدس دنیا را تولید می‌کنند و بر اساس آمار فائو، ایران با مجموع تولید حدود ۷۹۸۰۰تن در رده یازدهم تولیدکننده‌های عدس در جهان قرار دارد (FAO, 2014). عدس معمولاً در مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا، جایی که اغلب با کمبود نزولات و آب آبیاری مواجه هستند، کشت می‌شود؛ بنابراین همه ساله بخش قابل‌توجهی از مزارع عدس با تنش خشکی مواجه می‌شوند (Oweis *et al.*, 2005). این مشکل در استان خوزستان جدی‌تر است، به این دلیل که کشت این گیاه، به‌منظور استفاده از رطوبت ذخیره‌شده در خاک در ماه‌های انتهای سال انجام شده و در بسیاری از مناطق تولید عدس، مقدار و پراکنش

*نویسنده مسئول: armandnezam@yahoo.com

بارندگی در طول فصل رشد بسیار نامناسب است و گیاهان در دوره رشد رویشی با تنش خشکی متناوب و در مرحله رشد زایشی با تنش خشکی انتهایی وگرما به صورت توأم مواجه می‌شوند (Ahmadpour *et al*., 2016). بنابراین تنش آبی مهم‌ترین تهدیدکننده تولید موفقیت‌آمیز این گیاه در استان خوزستان به‌شمار می‌رود و با توجه به این‌که عدس (رقم گچساران) از ارقام متحمل به خشکی است، اما مطالعات متعددی گزارش کردند که کمبود آب از مهم‌ترین عوامل کاهش خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی و عملکردی در این گیاه محسوب می‌شود (Hosseini *et al*., 2011; Ahmadpour & Hosseinzadeh, 2017).

تولید محصول و اجزای عملکرد گیاهان زراعی ارتباط مستقیم با خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی دارد، به‌طوری که در شرایط تنش آبی کاهش معنی‌دار صفاتی نظیر فتوسنتز خالص، محتوای کلروفیل برگی، پایداری غشاء سلول، جذب عناصر غذایی، کارآیی فتوسیستمII و محتوای آب نسبی برگ منجر به کاهش معنی‌دار تولید محصول در این گیاهان می‌گردد (Ganjeali *et al*., 2011; Amiri *et al*., 2017). از سوی دیگر مهم‌ترین آسیب بافتی در شرایط تنش آبی، افزایش تولید گونه‌های اکسیژن فعال مانند سوپراُکسید، پراُکسیدهیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و ایجاد تنش اُکسیداتیو است (Abrishamchi *et al*., 2012). انواع مختلف اکسیژن فعال آسیب جدی به پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و غشاء سلول وارد می‌کنند که این واکنش‌ها به طور طبیعی ویژگی‌هایی چون سیالیت غشاء، انتقال یونی، فعالیت آنزیمی و سنتز پروتئین‌ها را کاهش داده و باعث تخریب DNA هسته‌ای و در نهایت مرگ سلولی می‌شوند (Unyayar *et al*., 2005; Ahmadpour *et al*., 2016). به منظور سازش و مقابله با اثرات منفی تنش اکسیداتیو در گیاهان، سیستم دفاع آنتی اکسیدانی به صورت آنزیمی (نظیر کاتالاز، پراُکسیداز و سوپراُکسید دیسموتاز و غیره) و غیرآنزیمی (آسکوربات، پرولین، گلوتاتیون، پروتئین‌های محلول و کاروتنوئیدها و غیره) فعال هستند که با کارآیی بالا اقدام به حذف و خنثی‌سازی گونه‌های اکسیژن فعال می‌کنند (Ahmadpour *et al*., 2016).

سوپراکسید دیسموتاز اولین مرحله دفاعی علیه گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن است و در نتیجه فعالیت این آنزیم سوپراکسید به پراکسید هیدروژن و اکسیژن تبدیل می‌شود. سپس پراکسید هیدروژن تولید شده به وسیله پراکسیدازها تجزیه می‌شود (Abrishamchi *et al*., 2012). پراکسیدازها معمولاً از سلول‌ها در برابر نفوذ H_2O_2 محافظت می‌کنند، به طوری‌که افزایش ناگهانی در فعالیت این آنزیم در شرایط کم‌آبی نشان دهنده تجمع و ایجاد بخش زیادی H_2O_2 در گیاه است (Helal & Samir, 2008). کاتالاز یک آنزیم آنتی‌اکسیدانی است و در حذف H_2O_2 تولید شده در پراکسیزوم‌ها و کاهش اثرات تخریبی گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن نقش مهمی بر عهده دارد (Abrishamchi *et al*., 2012). گیاهان متحمل به تنش‌های محیطی، علاوه بر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، از توانایی بیشتر سنتز پرولین و پروتئین‌های محلول (به‌منظور کاهش پتانسیل اسمزی و حفظ آب موجود در سلول‌ها در شرایط تنش) و متعاقب آن از پایداری بیشتر غشاء برخوردار هستند که نتیجۀ آن، هدررفت کمتر آب از طریق غشاهای سلولی می‌باشد (Bender Özenç, 2008).

با توجه به اثرات تنش کمبود آب در ارتباط با کاهش معنی‌دار عملکرد و محصول گیاه عدس، اتخاذ راهکارهای مناسب که بتواند اثرات منفی این تنش را بهبود دهد، بسیار اهمیت دارد. استفاده از کمپوست زباله‌های آلی، مواد زائد گیاهی و جانوری در خاک، علاوه بر افزایش و حفظ ماده آلی خاک، بهبود خاک و تأمین عناصر غذایی مورد نیاز گیاهان، باعث افزایش ظرفیت نگه‌داری آب، زهکشی مناسب و افزایش خلل و فرج خاک می‌شود که می‌تواند راهکاری مناسب در جهت بهبود خصوصیات مورفوفیزیولوژیکی گیاهان زراعی در شرایط تنش آبی به شمار رود (Chaoui *et al*., 2003; Mylavarapu *et al*., 2009). کمپوست روشی برای تبدیل ضایعات آلی به مواد قابل استفاده می باشد که در فرآیندی هوازی و از بازیافت مواد ارگانیک تولید می‌شوند (Lakhdar *et al*., 2009). بالابودن میزان عناصر غذایی نظیر نیتروژن، فسفر، پتاسیم و کلسیم در مقایسه با سایر کودهای آلی و به علاوه دارابودن عناصر میکرو مانند آهن، روی، مس و منگنز از دیگر مزایای کودهای کمپوست است (Marinari *et al*., 2000; Hargreaves *et al*., 2008). مطالعه تأثیر کودهای آلی بر خواص شیمیایی و بیوشیمیایی خاک در زمین‌های خشک مؤید این است که کمپوست و ورمی‌کمپوست، کمیت و کیفیت کربن آلی، نیتروژن، فسفر، بیوماس میکروبی و فعالیت‌های آنزیمی کل را افزایش می‌دهد (Gajalakshmi & Abbasi, 2002; Lakhdar *et al*, 2009; Hosseinzadeh *et al*., 2016).

از آنجا که خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، پایه و اساس صفات مورفولوژیکی و عملکردی گیاهان زراعی را تشکیل می‌دهد، بنابراین کاهش در این صفات تحت تنش آبی، کاهش تولید محصول را به‌دنبال دارد. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر استفاده از کود کمپوست زباله تر شهری در نسبت های مختلف با خاک بر مهم‌ترین عوامل فیزیولوژیکی (محتوای آب نسبی، پایداری غشاء سلول‌های برگی، کلروفیل کل، کارآیی

فتوسیستم‌II، CO_2 زیر روزنه، فتوسنتز خالص و کارآیی مصرف آب) و بیوشیمیایی (غلظت عناصر برگی، محتوای پرولین و پروتئین برگی، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز) در شرایط کم‌آبی است تا مشخص شود آیا استفاده از این کود می‌تواند اثرات منفی ناشی از تنش آب را بهبود دهد.

مواد و روش‌ها

به منظور ارزیابی کاربرد کود کمپوست در بهبود اثرات منفی ناشی از تنش کم‌آبی بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه عدس (رقم گچساران)، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال۱۳۹۵ در دانشگاه خاتم الأنبیاء بهبهان انجام شد. تیمارهای مورد بررسی عبارت بودند از: الف) نسبت‌های مختلف از کمپوست و خاک در ۵ سطح ۰:۱۰۰؛ ۹۵:۵؛ ۸۵:۱۵؛ ۷۵:۲۵ و ۶۵:۳۵درصد وزنی (به ترتیب معادل ۰:۲۵۰۰گرم، ۲۳۷۵:۱۲۵گرم، ۲۱۲۵:۳۷۵گرم، ۱۸۷۵:۶۲۵گرم و ۱۶۲۵:۸۷۵گرم) بود که خصوصیات خاک و کود مورد استفاده در این آزمایش در جدول۱ ذکر شده است. کود کمپوست از شرکت آرمان کاران زبده در تهران تهیه شد. ب) تیمار تنش آبی در سه سطح بدون تنش، تنش ملایم و تنش شدید (به ترتیب معادل ۷۵، ۵۰ و ۲۵درصد ظرفیت زراعی) که انتخاب این سطوح بر مبنای آزمایش‌های مقدماتی و نتایج سایر محققان بود. هر واحد آزمایشی گلدان‌هایی با حجم ۲/۵کیلوگرم بود. کود کمپوست طبق تیمارهای آزمایشی با خاک مخلوط شد و به میزان ۲/۵کیلوگرم در گلدان ریخته شد. بذرهای گیاه عدس تهیه شده از ایستگاه تحقیقاتی کشاورزی گچساران، پس از ضدعفونی و تعیین قوه نامیه در پتری‌دیش کشت شدند و چهار بذر جوانه‌زده در چهار قسمت از هر گلدان کشت شدند و در مرحله رشدی به سه گیاهچه تقلیل یافت. گلدان‌ها در شرایط گلخانه با درجه‌حرارت روز و شب ترتیب ۲۵+ و ۲۰+ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. به منظور اعمال تنش آبی از روش‌درصد رطوبت وزنی استفاده شد و بر این اساس به ترتیب وزن خاک خشک و اشباع در هرگلدان اندازه گیری شد. سپس با کسر وزن گلدان اشباع‌شده از آب و خاک خشک مقدار آب نگهداری‌شده در ظرفیت زراعی تعیین شد و تیمارهای مختلف بر این مبنا محاسبه شدند (Ganjeali *et al.*, 2011; Hosseinzadeh *et al.*, 2016). سپس ۱۰روز پس از کاشت (مرحله گیاهچه‌ای)، سطوح مختلف تنش بر روی ارقام مورد بررسی اعمال شد و تا پایان دوره رشد زایشی ادامه یافت. برداشت نمونه‌ها در انتهای مرحله غلاف‌دهی (۶۵روز پس از کاشت) انجام شد.

جدول ۱- برخی خصوصیات خاک و کود کمپوست مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Some of soil and compost fertilizer characteristics used in the experiment

خصوصیات Properties	اسیدیته pH	هدایت الکتریکی Electrical conductivity (dS/m)	کربن/ نیتروژن C/N	کلسیم Ca (%)	آهن Fe (%)	فسفر P (%)	پتاسیم K (%)	منیزیم Mg (%)	نیتروژن کل Total N (%)	ماده آلی Organic matter (%)
کمپوست Compost	7.08	2.5	21.4	5.5	0.6	1.3	1.5	1.3	3	21.3
خاک Soil	7.40	1.4	17.4	1	0.002	0.01	0.4	0.05	1.5	12.1

سنجش محتوای آب نسبی، پایداری غشاء و کارآیی فتوسیستم‌II

برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ از روش (Bian & Jiang, 2008) استفاده شد، به‌طوری‌که ۰/۵گرم از برگ دوم و سوم گیاه برداشت و برای ۴۸ساعت در آب غوطه‌ور شد. سپس برگ‌ها از آب خارج و سطح آن‌ها به آرامی با دستمال کاغذی خشک شد و توزین گردید. در انتها برگ‌ها در آون به مدت ۴۸ساعت خشک و سپس مجدداً وزن شدند. با سنجش شاخص‌های وزنی فوق از طریق معادله (۱) این صفت برای هر تیمار تعیین شد.

$$RWC \times 100 = (FW-DW/TW-DW) \quad (۱)\ \text{معادله}$$

در این معادله، RWC محتوای نسبی آب، FW وزن تر برگ، DW وزن خشک برگ و TW وزن برگ در حالت تورژسانس کامل است. ۰/۲گرم برگ از هر تیمار به منظور سنجش پایداری غشاء سلول‌های برگی برداشت شد و داخل دو گروه لوله آزمایش، حاوی ۱۰میلی‌لیتر آب مقطر گذاشته شدند. یک بخش از لوله‌های آزمایش به مدت ۳۰دقیقه در بن ماری (Model WNB 14, Memmert Instrument, Germany) ۴۰درجه سانتی‌گراد و بخش دیگر به مدت ۱۰دقیقه در بن ماری ۱۰۰درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پس از کاهش دمای لوله‌ها تا حد دمای محیط، هدایت الکتریکی نمونه‌ها به

وسیله دستگاه سنجش هدایت الکتریکی (Model RS232, AZ Instrument Corp, Taiwan) اندازه‌گیری و سپس با استفاده از معادله (۲) مطابق روش (Sairam & Saxena, 2001) این شاخص محاسبه شد.

معادله (۲)

شاخص پایداری غشاء = (هدایت الکتریکی آب در دمای ۱۰۰ °C / هدایت الکتریکی آب در دمای ۴۰ °C) – ۱

کارآیی فتوسیستم II (F_v/F_m) به وسیله دستگاه کلروفیل فلوریمتر (Pocket PEA, Hansatech, Instruments Ltd., King’s Lynn, Norfolk, England) انجام شد. با استفاده از گیره‌های مخصوص دستگاه، سطح برگ مورد نظر به مدت ۲۰دقیقه در شرایط تاریکی قرار گرفت. سپس با اتصال رابط دستگاه به برگ، نسبت F_v/F_m به صورت اتوماتیک در هر تیمار شِش‌بار خوانده شد و میانگین کل به عنوان عدد موردنظر یادداشت گردید.

سنجش خصوصیات فتوسنتزی

با استفاده از دستگاه سنجش تبادلات گازی برگ (KR8700 system, Korea Tech Inc. Suwon., Korea) برخی صفات فتوسنتزی نظیر فتوسنتز خالص (آسیمیلاسیون CO_2)، کارآیی مصرف آب (به صورت خودکار نسبت فتوسنتز خالص به تعرق توسط دستگاه) و CO_2 درون‌برگی در مرحله غلاف‌دهی اندازه‌گیری شد. این دستگاه از یک بخش مرکزی که مسئول پردازش داده‌ها و از یک اتاقک برگ که محل قرارگیری برگ جوان و سالم گیاه است، تشکیل شده است. تعیین این صفات به منظور رعایت شرایط یکنواخت بر روی برگ‌های دوم و سوم انجام شد و بر اساس میانگین سه تکرار در هر تیمار بود. شاخص کلروفیل برگی با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (CCM-200 plus, Opti-Sciences Inc, NH., USA) و بر مبنای میانگین ۱۰تکرار در هر تیمار بود.

سنجش پرولین و پروتئین محلول برگی

به منظور سنجش پرولین از روش Bates *et al*, (1973) استفاده شد، بدین صورت که یک‌گرم بافت برگ از برگ چهارم و پنجم در سولفوسالیسیلیک اسید ۳/۳درصد حجمی ساییده شده و به مدت ۱۰دقیقه در دمای ۴درجه سانتی‌گراد با سرعت ۴۰۰۰دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. در مرحله بعد ۲میلی‌لیتر از محلول‌رویی عصاره برگی به‌دست‌آمده به همراه ۲میلی-لیتر از ناین‌هیدرین و اسید استیک گلاسیال مخلوط شدند. سپس لوله آزمایش به مدت یک ساعت در بن‌ماری ۱۰۰درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از اضافه نمودن ۴میلی‌لیتر تولوئن، میزان جذب نمونه در ۵۲۰نانومتر قرائت شد. اندازه‌گیری پروتئین محلول برگی به روش (Lowry, 1951) انجام شد. جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۶۰نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Model SPEKOL 2000, Analyticjena, Germany) خوانده شد. غلظت پروتئین موجود در هر نمونه با کمک منحنی استاندارد آلبومین سرم گاوی تعیین شد و مقدار آن بر حسب میلی‌گرم برگرم وزن خشک برگ محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از برگ‌های ششم، هفتم و هشتم انجام شد. برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز در بافت ریشه، ۲میلی‌لیتر تامپون استات ۰/۲مولار با ۰/۲میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۰/۳درصد و ۰/۱میلی‌لیتر بنزیدین ۰/۰۲مولار محلول در متانول ۵۰درصد در حمام یخ مخلوط شدند و سپس ۰/۱میلی‌لیتر عصارۀ آنزیمی به آن اضافه شد و سپس هر ۳۰ثانیه به مدت ۳دقیقه جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۳۰نانومتر رسم شد و در نهایت فعالیت ویژه آنزیم بر حسب تغییرات واحد آنزیم در دقیقه به ازاء هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد (Holy, 1972). برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز از روش کندلی و اسکاندلیوس (Candlee & Scandalios, 1984) استفاده شد. ابتدا ۲/۵میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۵مولار و ۰/۳میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳درصد در حمام یخ با یکدیگر مخلوط شدند و بلافاصله ۰/۲میلی‌لیتر از عصاره آنزیم برگی به آن افزوده شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰نانومتر به مدت ۳-۴دقیقه بررسی شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از روش Beauchamp & Fridovich (1971) استفاده شد. بدین منظور ابتدا محلول بافر فسفات ۵۰میلی‌مولار تهیه شد و سپس ترکیبات زیر EDTA ۰/۱میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۷۵میکرومولار، متیونین ۱۳میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۴میکرومولار، به ترتیب اضافه گردید. در نهایت با اضافه‌شدن ۱۰۰میکرولیتر عصاره تحت روشنایی لامپ فلورسنت واکنش آغاز می‌شود و پس از گذشت ۱۵دقیقه جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. اختلاف جذب نمونه‌ها در ۵۶۰نانومتر، مهار احیاء نوری NBT در حضور آنزیم سوپراکسید دیسموتاز موجود در نمونه‌ها را نشان داد. با استفاده از این اختلاف جذب، فعالیت آنزیمی بر حسب واحد آنزیم در مقدار پروتئین کل (میلی‌گرم) در ۱۰۰میکرولیتر عصاره محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵درصد ($p \leq 0.05$) انجام شد.

نتایج و بحث

خصوصیات فیزیولوژیک

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثرات متقابل کاربرد کود کمپوست و تنش کم‌آبی تأثیر معنی‌داری بر محتوای نسبی آب برگ (RWC)، پایداری غشاء سلول، نسبت F_v/F_m در سطح احتمال خطای یک‌درصد و فتوسنتز خالص، CO_2 درون سلولی در سطح احتمال ۵درصد داشت (جدول ۲ و ۳). مقایسه میانگین‌ها در اثرات متقابل نشان داد که در شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی ملایم، استفاده از سطوح ۲۵ و ۳۵درصد وزنی کود کمپوست منجر به افزایش معنی‌دار محتوای آب نسبی برگ در مقایسه با سطوح شاهد در شرایط بدون تنش و تنش ملایم شد. در شرایط تنش شدید (۲۵درصد ظرفیت زراعی) تنها سطح ۳۵درصد وزنی در مقایسه با سایر سطوح کمپوست توانست به صورت معنی‌داری محتوای نسبی آب را افزایش دهد (جدول ۴).

جدول ۲- تجزیه واریانس خصوصیات فیزیولوژیک گیاه عدس در سطوح مختلف کاربرد کمپوست و تنش کم‌آبی

Table 2. Analysis of variance of compost application and water stress on some of physiological parameters of lentil

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Degree of freedom	محتوای آب نسبی Relative water content	پایداری غشاء سلول Cell membrane stability	کارآیی فتوسیستمII PSII efficiency	CO_2 درون‌برگی Intracellular CO_2	فتوسنتز خالص Net-photosynthesis	کارآیی مصرف آب Water use efficiency
کمپوست/Compost (a)	4	0.001**	0.0004**	0.0001**	1844.782**	4.306**	61.765**
تنش آب/Water stress (b)	2	0.033**	0.022**	0.025**	65063.022**	340.032**	1417.362**
کمپوست×تنش/ a×b	8	0.0002**	0.0003**	0.0001**	372.489 *	1.591*	9.155**
خطای آزمایش/ Error	30	0.0001	0.00001	0.0002	276.872	0.762	2.224
ضریب تغییرات/ CV (%)	-	0.74	1.11	0.95	3.50	7.76	4.32

ns، *، **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱درصد

ns, *,**: Non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively

جدول ۳- تجزیه واریانس خصوصیات بیوشیمیایی گیاه عدس در سطوح مختلف کاربرد کمپوست و تنش کم‌آبی

Table 3. Analysis of variance of compost application and water stress on some of biochemical parameters of lentil

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Degree of freedom	پرولین Proline	پروتئین محلول برگ Leaf protein content	پراکسیداز POX	کاتالاز CAT	سوپراکسید دیسموتاز SOD
کمپوست/Compost (a)	4	0.030**	122.176**	0.002**	0.0007**	0.006**
تنش آب/Water stress (b)	2	1.262**	205.744**	1.622**	0.005**	0.632**
کمپوست×تنش/ a×b	8	0.002*	8.458**	0.001*	0.0004*	0.003**
خطای آزمایش/ Error	30	0.007	1.530	0.001	0.00001	0.0003
ضریب تغییرات/ CV (%)	-	1.28	1.72	1.79	0.69	1.83

ns، *، **: به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱درصد

ns, *,**: Non-significant and significant at 5 and 1% probability levels, respectively

RWC یکی از پارامترهای فیزیولوژیکی مهم است که همبستگی بالایی با تحمل به تنش کمبود آب نشان می‌دهد و از آن به عنوان شاخص مقاومت به تنش خشکی در تحقیقات استفاده می‌شود، به‌طوری‌که RWC بالاتر گیاه، به معنی توانایی برگ در حفظ مقادیر بیشتر آب در شرایط تنش است (Rahbarian *et al.*, 2011). یکی از دلایل کاهش RWC در شرایط کمبود آب تأخیر در رشد ریشه و کاهش فعالیت آن به منظور جذب آب از خاک گزارش شده است (Tartoura, 2010). محققان گزارش کردند که در شرایط تنش کم‌آبی ریشه‌های گیاه عدس تحت تأثیر قرار می‌گیرند، به‌طوری‌که در یک مطالعه بر روی ارقام عدس در شرایط تنش کمبود آب مشاهده شد که بسیاری از خصوصیات ریشه نظیر طول، سطح، حجم و وزن خشک ریشه در شرایط تنش ۲۵ و ۵۰درصد ظرفیت زراعی کاهش معنی‌داری دارد (Ahmadpour *et al.*, 2016). در شرایط تنش‌های کمبود آب شدید علاوه بر کاهش جذب آب توسط ریشه، کاهش پتانسیل آب در سلول‌های ریشه اتفاق می‌افتد که سبب اختلال در انتقال آب در آوند چوبی می‌شود (Rahbarian *et al.*,

(2011. بنابراین به نظر می‌رسد با بهبود خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک می‌توان در کاهش اثرات منفی ناشی از کم‌آبی نقش داشت. کودهای آلی نظیر کمپوست با افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌ها، ظرفیت تبادل کاتیونی و ظرفیت نگهداری آب در بهبود خواص فیزیکی خاک در شرایط تنش‌های محیطی مانند کم‌آبی نقش به‌سزایی دارند (Chanda *et al*., 2011). استفاده از این کودها علاوه بر این‌که آب قابل دسترس در محیط ریشه را افزایش می‌دهد، منجر به افزایش نسبی پتانسیل آب در سلول‌های ریشه و حفظ مسیر انتقال آب در آوند چوب از ریشه به اندام هوایی می‌شود (Chanda *et al*., 2011; Amiri *et al*., 2017).

جدول ۴- مقایسه میانگین خصوصیات فیزیولوژیک گیاه عدس تحت تأثیر سطوح مختلف کمپوست و تنش آبی

Table 4. Mean comparison of physiological characteristics of lentil under different levels of compost and water stress

تیمارها/ کمپوست (درصد وزنی) **Compost/Treatments (Wt%)**	محتوای آب نسبی **Relative water content (%)**	پایداری غشاء سلول **Cell membrane stability**	کارآیی فتوسیستمII **PSII efficiency**	CO_2 درون‌برگی (میکرومول CO_2 بر مول) **Intracellular CO_2 (μ mol (CO_2) mol^{-1})**	فتوسنتز خالص (میکرومول بر مترمربع بر ثانیه) **Net-photosynthesis (μ mol $m^{-2} s^{-1}$)**	کارآیی مصرف آب **Water use efficiency**
Non stress (75% field capacity)/ بدون تنش کم‌آبی (۷۵درصد ظرفیت زراعی)						
Control/شاهد	0.694 bc	0.449 b	0.862 bc	513.6 bc	12.46 b	40.10 c
5%	0.698 b	0.450 b	0.857 c	515.7 bc	12.92 b	40.93 c
15%	0.711 b	0.475 a	0.870 abc	534.4 ab	15.35 a	46.07 b
25%	0.732 a	0.478 a	0.878 ab	556.7 a	15.45 a	48.23 ab
35%	0.738 a	0.479 a	0.884 a	548.5 a	15.47 a	50.23 a
Moderate water stress (50% field capacity)/ تنش کم‌آبی ملایم (۵۰درصد ظرفیت زراعی)						
Control/شاهد	0.658 e	0.418 e	0.830 d	478.7 d	7.23 c	30.17 e
5%	0.664 de	0.421 de	0.832 d	477.5 d	6.92 c	31.83 de
15%	0.670 de	0.425 cd	0.836 d	488.1 cd	7.45 c	33.23 d
25%	0.677 cd	0.426 c	0.837 d	500.9 cd	11.85 b	33.60 d
35%	0.680 cd	0.429 c	0.835 d	504.4 cd	11.95 b	33.83 d
Severe water stress (25% field capacity)/ تنش کم‌آبی شدید (۲۵درصد ظرفیت زراعی)						
Control/شاهد	0.616 f	0.389 f	0.792 e	395.9 f	4.68 d	22.43 g
5%	0.617 f	0.390 f	0.790 e	389.8 f	4.93 d	25.63 f
15%	0.622 f	0.391 f	0.788 e	412.9 ef	5.18 d	27.13 f
25%	0.625 f	0.390 f	0.782 e	390.1 f	7.25 c	27.27 f
35%	0.654 e	0.393 f	0.790 e	432.7 e	7.43 c	27.47 f

*: در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنه‌ای دانکن ($P \leq 0.05$) اختلاف معنی‌داری ندارند.

The means with one same letter in each column are not significantly differences at $P \leq 0.05$ according to Duncan's test.

کاربرد کمپوست در سطوح ۱۵، ۲۵ و ۳۵درصد وزنی در شرایط بدون تنش و تنش آبی ملایم، به صورت معنی‌داری پایداری غشاء سلول‌های برگی را نسبت به شاهد افزایش داد، در حالی‌که در شرایط تنش شدید در مقایسه بین تیمارهای کود کمپوست تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۴). تنش خشکی به‌خصوص در شدت‌های بالا منجر به تغییرات اساسی در فسفولیپیدهای غشاء شده (ایجاد ساختار شش‌وجهی و تبدیل ساختار غشاء به ساختار منفذدار) که در این حالت غشاء سلولی پایداری خود را از دست داده و در صورت قرارگرفتن برگ در یک محیط آبی مواد محلول از سلول‌های آن تراوش می‌یابد، لذا پایداری غشاء به‌وسیله ارزیابی تراوش یون‌ها از آن تعیین می‌شود (Bayoumi *et al*., 2008). کمبود آب در محیط اطراف ریشه منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو و افزایش ترکیبات مخرب نظیر گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) شده که یکی از مهم‌ترین عوامل تخریب غشاهای سلول به‌شمار می‌رود (Ahmadpour *et al*., 2016). در تحقیقات متعدد بر گیاهان زراعی مشاهده شد که علاوه بر افزایش ROS ها، در شرایط تنش خشکی کاهش فشار تورگر در سلول‌ها نقش مستقیمی در تخریب غشاءهای سلولی و کاهش رشد دارند (Bayoumi *et al*., 2008; Abrishamchi *et al*., 2012). از مزایای افزودن کودهای آلی نظیر کمپوست به خاک افزایش قابلیت دسترسی عناصر مغذی و مواد هومیکی است که می تواند با کاهش پتانسیل اسمزی محیط اطراف ریشه، موجب کاهش پتانسیل آب و در نهایت حفظ بیشتر آب در محیط ریشه (ریزوسفر) شود (Pritam & Garg, 2010). در آزمایشی بر روی لوبیا در شرایط تنش شوری و بر روی نخود در شرایط

تنش خشکی گزارش شد که کاربرد کمپوست و ورمی‌کمپوست به‌دلیل افزایش ظرفیت نگهداری آب و عناصر غذایی (نیتروژن و فسفر) منجر به افزایش معنی‌دار طول و سطح ریشه می‌گردد (Beyk Khurmizi *et al*., 2010; Amiri *et al*., 2017). در این مطالعه نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش و تنش ملایم، سطوح کمپوست مورد استفاده توانست شاخص پایداری غشاء را بهبود دهد.

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی، سطح ۳۵درصد وزنی کمپوست در مقایسه با تیمار شاهد و ۵درصد وزنی منجر به افزایش معنی‌دار نسبت F_v/F_m شد، اما در شرایط تنش ۵۰ و ۲۵درصد ظرفیت زراعی اختلاف معنی‌داری بین سطوح کمپوست مورد بررسی وجود نداشت. از طرف دیگر با بررسی اثرات تنش کم‌آبی به تنهایی مشاهده شد که تنش ملایم و شدید منجر به کاهش معنی‌دار کارآیی فتوسیستمII در مقایسه با شرایط بدون تنش شد (جدول ۴).

شیوه سنجش کارآیی فتوسیتم II (نسبت F_v/F_m) در سال های اخیر در مطالعات اکوفیزیولوژی گیاهی به‌عنوان یک روش سریع، حساس و غیرتخریبی مورد توجه بسیار قرار گرفته است و شاخص مناسبی برای عملکرد فتوسنتزی گیاه و مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی است (Rasti Sani *et al*., 2014). تنش خشکی با تجمع ناقلین پرانرژی در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی، تشکیل رادیکال‌های آزاد، تخریب کمپلکس‌های پروتئینی جمع‌کننده نور، تخریب پروتئین D_1 (پلی‌پپتید ساختمانی موجود در PSII) و کمپلکس آزادکننده اکسیژن، موجب آسیب به فتوسیستم(PSII) II و کاهش نسبت F_v/F_m می‌شود (Rahbarian *et al*., 2011). کاهش نسبت F_v/F_m تحت شرایط تنش خشکی در گیاهان مختلف نظیر نخود، لوبیا، ذرت و گندم نیز گزارش شد (Rasti Sani *et al*., 2014; Amiri *et al*., 2017). مطالعات مختلفی در ارتباط با کودهای کمپوست و ورمی‌کمپوست نشان داده‌اند که استفاده از این کودها می‌توانند در حفظ فعالیت فتوسنتزی و کارآیی فتوسیستمII (به عنوان اولین سیستم نوری درگیرشونده در زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی) نقش داشته باشند (Bender Ozenç, 2006; Hosseinzadeh *et al*., 2016). این محققان نشان دادند که افزودن کودهای آلی نظیر کمپوست و ورمی‌کمپوست به خاک با افزایش ظرفیت نگهداری آب، رشد ریشه، عناصر مغذی موجب کمتربسته‌شدن روزنه‌ها، افزایش CO_2 درون سلولی، حفظ انتقال غیرفعال در آوند چوب و افزایش فعالیت کربوکسیلازی آنزیم روبیسکو می‌گردد. در این مطالعه استفاده از کود کمپوست (۳۵درصد وزنی) در شرایط بدون تنش مؤثر بود و توانست کارآیی فتوسیستمII را نسبت به شاهد افزایش دهد.

در بررسی اثرات متقابل کمپوست و تنش در ارتباط با CO_2 درون سلول‌های برگی نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش کم‌آبی، سطوح ۲۵ و ۳۵درصد وزنی به صورت معنی‌داری در مقایسه با شاهد این صفت را افزایش دادند، اما در شرایط تنش ملایم، اختلاف معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت. در شرایط تنش شدید، سطح ۳۵درصد وزنی کمپوست نسبت به دیگر سطوح به‌جز سطح ۱۵درصد وزنی، افزایش معنی‌داری داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین داده‌های مرتبط با فتوسنتز خالص در گیاه عدس نشان داد که در شرایط بدون تنش، اضافه نمودن کمپوست به خاک در سطوح ۱۵، ۲۵ و ۳۵درصد وزنی منجر به افزایش معنی‌دار فتوسنتز برگی در مقایسه با سایر سطوح شد، اما در شرایط تنش ملایم و شدید، تیمارهای ۲۵ و ۳۵درصد وزنی کمپوست موجب افزایش معنی‌دار این صفت گردید (جدول ۴).

مطالعات متعدد بر روی حبوبات از قبیل نخود، لوبیا و عدس نشان داده است که تحت تأثیر تنش کم‌آبی غلظت CO_2 درون‌برگی و فتوسنتز خالص به واسطه بسته‌شدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد (Rasti Sani *et al*., 2014; Ahmadpour *et al*., 2016; Amiri *et al*., 2017). نتایج این مطالعه نیز با نتایج فوق مطابقت داشت، به طوری که تنش خشکی شدید منجر به کاهش معنی‌دار نرخ فنوسنتز و غلظت CO_2 درون‌برگی در مقایسه با شرایط بدون تنش شد. گیاهان در شرایط تنش کم‌آبی جهت حفظ آب برگ و جلوگیری از هدررفت آن با بستن روزنه‌ها، تعرق را به شدت کاهش می دهند، درنتیجه فرآیند صعود آب در آوند چوب به‌علت کاهش مکش حاصل از تعرق آسیب دیده و اثرات منفی تنش کم‌آبی بر سیستم فتوسنتزی بیشتر نمایان می‌شود (Hosseinzadeh *et al*., 2016). محققان معتقدند که گیاهانی که از مکانیسم‌های کارآمدتری برای کنترل بازوبسته‌شدن روزنه‌ها به منظور تنظیم تعرق برخوردار هستند، قادر به تحمل بهتر شرایط تنش کم‌آبی بوده و نیز ثبات بیشتری در سیستم فتوسنتزی دارند (Rahbarian *et al*., 2011). محققان گزارش کردند که استفاده از کود کمپوست منجر به افزایش جمعیت برخی میکروارگانیسم‌های خاک نظیر باکتری‌های تثبیت‌کننده اکتینومیست و نیز جمعیت میکوریزایی همزیست با ریشه گیاهان می‌شود (Marinari *et al*., 2000). میکروارگانیسم-های خاک مثل قارچ میکوریزا برای متابولیسم خود به کربوهیدرات‌های گیاه نیاز دارند، به همین دلیل تجمع قندها در ریشه افزایش یافته و با توجه به این‌که قندها از اسمولیت‌های

سازگار محسوب می‌شوند، بنابراین مـی‌توانـد در جهـت تنظـیم فشار اسمزی محیط ریشه نقش ایفا کند و منجر به بهبود اثرات منفی تنش مانند کمتربسته‌شدن روزنه‌ها و فـراهم شـدن CO_2 مورد نیاز بـرای فتوسـنتز شـود (Bender Ozenç, 2006). در آزمایشی که بر روی اثرات استفاده از مخلوط کمپوست و خـاک در بستر کشت گیاهان انجام شد، نتایج نشان داد که استفاده از کمپوست در خاک منجر به افزایش فعالیت میکروارگانیسم‌هـای خاک و افزایش غلظت CO_2 محیط آزمایش شد کـه در تـأمین CO_2 فتوسنتزی می‌تواند نقش مهمی داشته باشد (Marinari *et al*., 2000). در حالت کلی، به نظر می‌رسـد کـه اسـتفاده از کود کمپوست با کاهش محـدودیت‌هـای روزنـه‌ای (نظیـر ورود CO_2 به عنوان ماده اولیه فتوسنتزی، کاهش تنفس نوری، حفظ مکانیسم تعرق و انتقال غیرفعال در آوند چوب) می‌توانـد نقـش مهمی در ثبات و عملکرد سیستم فتوسنتزی داشته باشد.

اثرات متقابل کود کمپوست و تنش کـم‌آبـی تـأثیر معنـی داری بر کـارآیی مصـرف آب در گیـاه عـدس دارد (جـدول ۲). نتایج نشان داد که در شرایط بدون تنش و تنش کم‌آبی ملایـم، سطوح ۱۵، ۲۵ و ۳۵درصد وزنـی منجـر بـه افـزایش معنـی‌دار کارآیی مصرف آب در سلول‌های برگی نسبت به سـطوح شـاهد شدند. در شرایط تنش کم‌آبی شدید (۲۵درصد ظرفیت زراعی)، تمامی سطوح کمپوست مورد بررسی در مقایسـه بـا شـاهد بـه صـورت معنـی‌داری کـارآیی مصـرف آب را افـزایش دادنـد (جدول۴). کارآیی مصرف آب شاخص مناسـبی جهـت ارزیـابی تحمل به تنش کمبود آب در گیاهان زراعی محسوب می‌شود و از طریق نسبت تولید ماده خشک (تثبیت CO_2) به میزان تعرق سنجش می‌شود (Bayoumi *et al*., 2008). در اثر تـنش کـم آبی مقدار آب مصرفی گیاه کاهش می‌یابد که مربوط به کـاهش پتانسیل آب محیط ریشه و کاهش توان گیاه در جذب آب می-باشد (Johnson *et al*., 2002). افزودن کودهای آلی به خـاک منجر به افزایش اسید هیومیک شده که توسط میکروارگانیسم-ها تولید شده و نقش بسـیار مهمـی در اصـلاح سـاختار خـاک دارند (Gajalakshmi & Abbasi, 2002). مولکول‌های اسید هیومیک شبیه یک چسب آلی عمل مـی‌کننـد و بـا کـانی‌هـای خاک تشکیل پیوند داده و شبکه‌ای به‌هم‌پیوسته را ایجـاد مـی-کنند که علاوه بر تولید گرانـول‌هـای درشـت‌تـر، ایجـاد فضـای مناسب برای میکروارگانیسم‌ها، نفوذ بیشـتر هـوا و رشـد ریشـه مـــی‌تواننـــد حجـــم زیـــادی از آب را نیـــز ذخیـــره کننـــد (Bolandnazar *et al*., 2007). بنـابراین هیومیـک اسـید موجود در کمپوست می‌تواند با افزایش ظرفیـت نگهـداری آب، رانـــدمان مصـــرف آب را در گیاهـــان زراعـــی بهبـــود دهـــد (Bolandnazar *et al*., 2007). در تحقیقات دیگـر، محققـان گزارش کردند که کود کمپوست حاوی میکروارگانیسـم‌هـایی از قبیل میکوریزا است که باعث افزایش سطح ورود آب بـه ریشـه شده و توان گیاه را برای جذب بیشـتر عناصـر غـذایی و حفـظ رطوبت افزایش داده که پیامد اصلی آن بیشتربازماندن روزنه‌هـا، افزایش فتوسـنتز خـالص (مـاده خشـک تولیـدی) و در نهایـت افزایش کارآیی مصرف آب اسـت (Gajalakshmi & Abbasi, 2002; Bender Özenç, 2008).

خصوصیات بیوشیمیایی

آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد که کمپوست، تنش کم‌آبی و اثرات متقابل آن‌هـا بـا یکـدیگر اثـر معنـی‌داری بـر محتـوای پرولین و پروتئین محلول برگی دارد (جدول ۳). اثر برهم‌کـنش تیمارها نشان داد که در شرایط بدون تنش آبی، تیمارهـای ۲۵ و ۳۵درصد وزنی کـود کمپوسـت منجـر بـه افـزایش معنـی‌دار محتوای پرولین در مقایسه با سطح شاهد شد. در شرایط تـنش ملایم، تنها سطح ۳۵درصد وزنی در مقایسه بـا شـاهد محتـوای این پارامتر را به صورت معنی‌داری افزایش داد. در شرایط تنش شدید، تفاوت معنی‌داری بین تیمارها وجود نداشت (جـدول ۵). نتایج جدول۵ نشان می‌دهد که محتوای پروتئین محلول برگـی در شرایط بدون تنش و تنش ملایم (به ترتیب ۷۵ و ۵۰درصـد ظرفیت زراعی)، با کاربرد کمپوست در تمامی سطوح نسبت بـه شاهد افزایش معنی‌داری داشت. در شرایط تنش کم‌آبی شـدید، محتـوای پـروتئین در سـطوح ۱۵، ۲۵ و ۳۵درصـد وزنـی در مقایسه با شاهد و سطح ۵درصد وزنی افزایش معنی‌داری داشت (جدول ۵).

تنش‌های محیطی نظیـر خشـکی، شـوری،گرمـا و سـرما، موجب افزایش بیان یکسری از ترکیبـات پروتئینـی در گیاهـان زراعـی مـی‌شـوند (Rahbarian *et al*., 2011; Lakhdar *et al*., 2009). تحقیقـات نشـان داده اسـت کـه ایـن ترکیبـات پروتئینی نقش مهمی در ایجاد سازگاری با شرایط تنش دارنـد، به‌طوری‌که افزایش محتوای پروتئین کـل و پـرولین بـه عنـوان محافظت‌کننده‌های اسمزی، نقـش اساسـی در تنظـیم اسـمزی تحت شرایط کمبود آب در گیاهان دارند، بنابراین افـزایش ایـن ترکیبات منجر به کاهش اثرات تخریبی ناشی از تـنش کـم‌آبـی در گیاهان می‌شود (Abrishamchi *et al*., 2012). دهیـدرین ها، آنزیم‌های سنتزکننده متابولیت‌ها و همچنین پروتئین‌هـایی که در پاسخ به آسیب سلولی درگیـر مـی‌شـوند (پـروتئین‌هـای شوک حرارتی)، از مهـم‌تـرین پـروتئین‌هـای محلـول در ریشـه می‌باشند (Rahbarian *et al*., 2011).

جدول ۵- مقایسه میانگین خصوصیات بیوشیمیایی گیاه عدس تحت تأثیر سطوح مختلف کمپوست و تنش آبی

Table 5. Comparison of biochemical characteristics of lentil under different levels of compost and water stress

تیمارها/ کمپوست (درصد وزنی) **Compost/Treatments (Wt %)**	پرولین (میکرو مول برگرم وزن تر) **Prolin** **(µmol g-1FW)**	محتوای پروتئین (میلی‌گرم برگرم وزن خشک) **Protein content (mg g-1DW)**	فعالیت پراکسیداز (واحد آنزیمی در یک میلی گرم پروتئین) **POX Activity (enzyme per mg protein)**	فعالیت کاتالاز (واحد آنزیمی در یک میلی‌گرم پروتئین) **CAT Activity (enzyme per mg protein)**	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (واحد آنزیمی در یک میلی‌گرم پروتئین) **SOD Activity (enzyme per mg protein)**
		Non stress (75% field capacity) /بدون تنش کم‌آبی (۷۵درصد ظرفیت زراعی)			
Control/شاهد	5.88 f	62.38 g	1.508 d	0.438 e	0.740 i
5%	5.96 ef	68.10 f	1.517 d	0.438 e	0.762 h
15%	6.01 ef	69.28 ef	1.526 d	0.444 d	0.764 gh
25%	6.04 e	70.71 de	1.519 d	0.447 cd	0.769 gh
35%	6.08 e	72.08 cd	1.532 d	0.451 c	0.773 g
		Moderate water stress (50% field capacity) /تنش کم‌آبی ملایم (۵۰درصد ظرفیت زراعی)			
Control/شاهد	6.27 d	63.07 g	1.752 c	0.464 b	0.868 f
5%	6.33 cd	71.53 d	1.750 c	0.465 b	0.873 ef
15%	6.39 bcd	73.58 bc	1.771 c	0.465 b	0.873 ef
25%	6.40 bcd	74.41 b	2.076 b	0.466 b	0.876 ef
35%	6.46 abc	74.95 b	2.083 b	0.481 a	0.879 e
		Severe water stress (25% field capacity) /تنش کم‌آبی شدید (۲۵درصد ظرفیت زراعی)			
Control/شاهد	6.53 ab	72.86 bcd	2.148 b	0.478 a	1.077 d
5%	6.55 a	72.77 bcd	2.151 b	0.479 a	1.111 c
15%	6.56 a	77.06 a	2.156 b	0.482 a	1.205 a
25%	6.58 a	78.05 a	2.224 a	0.483 a	1.194 b
35%	6.60 a	78.65 a	2.227 a	0.483 a	1.212 a

*: در هر ستون، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک می‌باشند، مطابق آزمون چنددامنه‌ای دانکن (P≤0.05) اختلاف معنی‌داری ندارند.

The means with one same letter in each column are not significantly differences at P≤0.05 according to Duncan's test.

پرولین در سلول‌های تحت تنش به دلیل خاصیت هیدروفیلی قادر است جایگزین مولکول‌های آب در اطراف نوکلئیک اسیدها، پروتئین‌ها و مولکول‌های غشایی گردد و بدین وسیله از ساختار غشاء سلول محافظت می‌کند (Bayoumi *et al.*, 2008).از دیگر مزایای کاربرد کود کمپوست در خاک افزایش نیتروژن قابل دسترس برای گیاه است که علت آن افزایش جمعیت‌های میکروبی خاک از قبیل تثبیت‌کننده‌های نیتروژن، اکتینومیست و همچنین جمعیت میکوریزایی همزیست با ریشه گیاهان است (Gajalakshmi & Abbasi, 2002; Bender Özenç, 2008). نیتروژن از مواد اولیه لازم برای بیوسنتز ترکیبات پروتئینی محسوب می‌شود و با توجه به این‌که پروتئین محلول برگی و پرولین ماهیت نیتروژنی دارند، بنابراین افزایش پرولین و پروتئین کل برگی در سطوح کمپوست مورد استفاده، ارتباط مستقیم با افزایش نیتروژن در خاک و جذب آن توسط گیاه دارد. در نتایجی مشابه نیز گزارش شد که استفاده از کمپوست منجر به افزایش ماده آلی و نیتروژن کل در خاک می‌گردد (Mylavarapu *et al.*, 2009).

نتایج نشان داد که کود کمپوست و تنش کم‌آبی تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگی (پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) دارند (جدول ۳). تنش کم‌آبی شدید و ملایم منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با شرایط بدون تنش شد. بین سطوح کمپوست مورد بررسی اختلاف معنی‌داری در شرایط بدون تنش مشاهده نشد، اما در شرایط تنش شدید و ملایم، سطوح ۲۵ و ۳۵درصد وزنی کمپوست موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به سطوح شاهد شد (جدول ۵). با توجه به جدول۵ مشاهده شد که تنش ۲۵ و ۵۰درصد ظرفیت زراعی منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با شرایط بدون تنش شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط بدون تنش، تحت تأثیر سطوح ۱۵، ۲۵ و ۳۵درصد وزنی کمپوست نسبت به سطح شاهد و ۵درصد وزنی افزایش معنی‌داری داشت. در شرایط تنش کم‌آبی ملایم، سطح ۳۵درصد وزنی کمپوست به صورت معنی‌داری فعالیت این آنزیم را در مقایسه با سایر سطوح کمپوست افزایش داد. در شرایط تنش ۲۵درصد ظرفیت زراعی اختلاف معنی‌داری از لحاظ فعالیت آنزیم کاتالاز بین تیمارهای کمپوست مورد

بررسی وجود نداشت (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در اثرات متقابل کمپوست و تنش بر فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز نشان داد که در شرایط تنش شدید و بدون تنش کم‌آبی، کلیه سطوح کمپوست مورد بررسی در مقایسه با سطوح شاهد به صورت معنی‌داری فعالیت این آنزیم را افزایش دادند. در شرایط تنش ملایم، سطح ۳۵درصد وزنی نسبت به سطح شاهد منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز شد، در حالی‌که با سایر سطوح کمپوست مورد استفاده تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۵).

مکانیسم‌هایی که تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهند، نقش مهمی در بهبود تحمل به تنش کم‌آبی ایفا می‌کنند (Abrishamchi *et al*., 2012). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو، دارای سیستم دفاعی کارآمدی هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد (نظیر H_2O_2، OH^- و O_2^-) را از بین برده و یا خنثی کنند (Abrishamchi *et al*., 2012). این سیستم دفاعی شامل آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX)، کاتالاز (CAT) و غیره می‌باشند. اولین پاسخ گیاهان به تنش‌های آبی بستن روزنه‌ها و کاهش تعرق است (Porsa *et al*., 2001). بستن روزنه‌ها منجر به کاهش غلظت CO_2 در سلول‌های مزوفیل برگ و تجمع NADPH می‌گردد که در این حالت اکسیژن به عنوان پذیرنده نهایی الکترون‌ها عمل می‌کند و رادیکال سوپراکسید (O_2^-) ایجاد می‌شود (Rahbarian *et al*., 2011). در شرایط تنش‌های کم‌آبی شدید بر روی ارقام گیاه عدس مشخص شد که برخی عناصر مورد نیاز جهت فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی اکسیدان مانند منیزیم و آهن کاهش می‌یابد، درنتیجه سیستم دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو کارآمد نیست و مقاومت گیاه نسبت به تنش به شدت کاهش می‌یابد (Ahmadpour *et al*., 2016). مهم‌ترین و برجسته‌ترین ویژگی استفاده از کود کمپوست بالابودن میزان عناصر غذایی مثل نیتروژن، فسفر، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و عناصر میکرو مانند آهن، روی، مس و منگنز از در مقایسه با سایر کودهای شمیایی و حیوانی است (Hargreaves *et al*., 2008). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که کود کمپوست با دردسترس‌قراردادن برخی عناصر مغذی (Fe, Mn, Mg) که به عنوان گروه پروستتیک هموپروتئین هایی نظیر کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مطرح هستند (Helal & Samir, 2008; Ahmadpour *et al*., 2016)، در افزایش معنی‌دار سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی نقش دارد. در حالت کلی می‌توان گفت استفاده از کود کمپوست علاوه بر فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با دردسترس قراردادن آب مورد نیاز گیاه منجر به کمتربسته‌شدن روزنه‌ها، افزایش فتوسنتز خالص، حفظ مکانیسم‌های تعرق و انتقال غیرفعال در آوند چوب شده که در نهایت کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان را به‌دنبال دارد (Bender Özenç, 2008; Hosseinzadeh *et al*., 2016).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که در شرایط بدون تنش کم آبی، سطوح ۲۵ و ۳۵درصد وزنی کمپوست در تمامی صفات مورد بررسی به‌جز فعالیت آنزیم پراکسیداز بر سطح شاهد برتری داشت. زمانی که بستر کشت گیاه با تنش کم‌آبی ملایم و شدید روبه‌رو شد، کاهش معنی‌دار در کلیه صفات مورد بررسی رخ داد. افزودن کود کمپوست به خاک به خصوص در سطوح ۲۵ و ۳۵درصد وزنی در اکثر صفات مورد بررسی (محتوای آب نسبی برگ، پایداری غشاء سلول، فتوسنتز خالص، کارآیی مصرف آب، محتوای پرولین، محتوای پروتئین کل محلول برگی، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز) در شرایط تنش ملایم منجر به بهبود اثرات منفی ناشی از تنش کم‌آبی شد. در شرایط تنش کم‌آبی شدید (۲۵درصد ظرفیت زراعی)، سطح ۳۵درصد وزنی کمپوست موجب افزایش معنی‌دار محتوای آب نسبی، کارآیی مصرف آب، فتوسنتز خالص، CO_2 درون‌برگی، محتوای پروتئین کل، فعالیت آنزیم پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با سطح شاهد شد. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان کاربرد کمپوست زباله‌تر شهری را در سطوح ۲۵ و ۳۵درصد وزنی در جهت بهبود اثرات منفی تنش کم‌آبی برای گیاه عدس پیشنهاد داد.

منابع

1. Abrishamchi, P., Ganjeali, A., and Sakeni, H. 2012. Evaluation of morphological traits, proline content and antioxidant enzymes activity in chickpea genotypes (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. Iranian Journal of Pulses Research 3(2): 17-30. (In Persian with English Summary).
2. Ahmadpour, R., and Hosseinzadeh, S.R. 2017. Change in growth and photosynthetic parameters of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) in response to methanol foliar application and drought stress. International Journal Agriculture and Bioscience 6(1): 7-12.

3. Ahmadpour, R., Hosseinzadeh, S.R., and Chashiani, S. 2016. Study of root morpho-physiological and biochemical characteristics of lentil (*Lens culinaris* Medik.) in response to moisture stress. Journal of Iranian Plant Echophysiological Research 2(2): 123-135. (In Persian with English Summary).
4. Amiri, H., Ismaili, A., and Hosseinzadeh, S.R. 2017. Influence of vermicompost fertilizer and water deficit stress on morpho-physiological features of chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. karaj). Compost Science and Utilization 26: 1-14.
5. Bates, L.S., Waldern, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil Environment 39: 205-207.
6. Bayoumi, T.Y., Eid, M., and Metwali, E.M. 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. African Journal of Biotechnology 7: 2341-2352.
7. Beauchamp, C., and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and applicable to acryl amide gels. Annual Reviw Biochemistry 44: 276-287.
8. Bender Ozenç, D. 2006. Effects of composted hazelnut husk on growth of tomato plants. Compost Science and Utilization 14: 271-275.
9. Bender Özenç, D. 2008. Growth and transpiration of tomato seedlings grown in Hazelnut Husk compost under water-deficit stress. Compost Science and Utilization 16: 125-13.
10. Beyk Khurmizi, A., Ganjeali, A., Abrishamchi, P., and Parsa, M. 2010. The effect of vermicompost on salt tolerance of bean seedlings (*Phaseolus vulgaris* L.). Agroecology 23: 474-485.
11. Bian, Sh., and Jiang, Y. 2008. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky bluegrass in response to drought stress and recovery. Scientia Horticulturae 120: 264-270.
12. Bolandnazar, S., Aliasgarzad, N., Neishabury, M.R., and Chaparzadeh, N. 2007. Mycorrhizal colonization improves onion (*Allium cepa* L.) yield and water use efficiency under water deficiet condition. Scientia Horticulturae 114: 11-15.
13. Chanda, GK., Bhunia, G., and Chakraborty, SK. 2011. The effect of vermicompost and other fertilizers on cultivation of tomato plants. Journal of Horticulture and Forestry 3(2): 42-45.
14. Chandlee, J.M., and Scandalios, J.G. 1984. Analysis of variants affecting the catalase development program in Maize scutellum. Journal of Apply Genetic 69: 71-77.
15. Chaoui, HI., Zibilske, LM., and Ohno, T. 2003. Effects of earthworm casts and compost on soil microbial activity and plant nutrient availability. Soil Biology and Biochemistry 35: 295-302.
16. FAO. 2014. http://www.fao.org.
17. Gajalakshmi, S., and Abbasi, S.A. 2002. Effect of the application of water hyacinth compost/vermicompost on the growth and flowering of *Crassandra undulaefolia*, and on several vegetables. Bioresource Technology 85: 197-199.
18. Ganjeali, A., Porsa, H., and Bagheri, A. 2011. Assessment of Iranian chickpea (*Cicer arietinum* L.) germplasms for drought tolerance. Agriculture Water Management 98: 1477-1484.
19. Hargreaves, J.C., Adl, M.S., and Warman, P.R. 2008. A review of the use of composted municipal solid waste in agriculture. Agriculture Ecosystem and Environment 123: 1-14.
20. Helal, R.M., and Samir, M. 2008. Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. Australian Journal Crops Science 1: 31-36.
21. Holy, M.C. 1972. Indole acetic acid oxidase: a dual catalytic enzyme. Journal of Plant Physiology 50: 15-18.
22. Hosseini, F.S., Nezami, A., Parsa, M., and Hajmohammadnia Ghalibaf, K. 2011. Effects of supplementary irrigation on yield and yield components of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) cultivars in Mashhad climate. Journal of Water and Soil 25(3): 625-633. (In Persian with English Summary).
23. Hosseinzadeh, S.R., Amiri, H., and Ismaili A. 2016. Effect of vermicompost fertilizer on photosynthetic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) under drought stress. Photosynthetica 54 (1): 87-92.
24. Johnson, J.D., Tognetti, T., and Paris, P. 2002. Water relations and gas exchange in poplar and willow under water stress and elevated atmospheric CO_2. Physiology Plantarum 115: 93-100.
25. Lakhdar, A., Rabhi, M., Ghnaya, T., Montemurro, F., Jedidi, N., and Abdelly, C. 2009. Effectiveness of compost use in salt-affected soil. Hazardous Materials 171(3): 29-37.
26. Marinari, S., Masciandaro, G., Ceccanti, B., and Grego, S. 2000. Influence of organic and mineral fertilisers on soil biological and physical properties. Bioresource Technology 72: 9-17.
27. Mylavarapu, R.S., and Zinati, G.M. 2009. Improvement of soil properties using compost for optimum parsley production in sandy soils. Scientia Horticulturae 120: 426-430.

28. Oweis, T., Hachum A., and Pala, M. 2005. Lentil production under supplemental irrigation in a Mediterranean environment. Agriculture Water Management 68: 251-265.
29. Porsa, H., Bagheri, A., Nezami, A., Mohammadabadi, A.A., and Langari, M. 2001. Evaluation of fall winter planting of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in dryland conditions of North Khorasan. Iranian Journal of Science and Technology 16: 143-152. (In Persian with English Summary).
30. Pritam, S.V.K., and Garg, C.P.K. 2010. Growth and yield response of marigold to potting media containing vermicompost produced from different wastes. Environmentalist 30: 123-130.
31. Rahbarian, R., Khavari-Nejad, R., Ganjeali, A., Bagheri A.R., and Najafi, F. 2011. Drought stress effects on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and water relations in tolerant and susceptible chickpea (*Cicer arietinum* L.) genotypes. Acta Biologica Cracoviensia 53: 47-56.
32. Rasti Sani, M., Lahouti, M., and Ganjeali, A. 2014. Effect of drought stress on some morphophysiological traits and chlorophyll fluorescence of red bean seedlings (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Journal of Pulses Research 5(1):103-116.
33. Sairam, R.K., and Saxena, D.C. 2001. Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science 184: 55-61.
34. Tartoura, A.H, 2010. Alleviation of oxidative-stress induced by drought through application of compost in wheat (*Triticum aestivum* L.) plants. American-Eurasian Journal Agriculture Environment Science 9(2): 208-216.
35. Unyayar, S., Kele, Y., and Cekic, F.O. 2005. The antioxidative response of two tomato species with different drought tolerances as a result of drought and cadmium stress combinations. Plant Soil Environment 51(2): 57-64.

Iranian Journal of Pulses Research
Vol. 10, No. 1, 2019, p. 141-154 (Research Article)

Effect of compost fertilizer on antioxidant activity and physiological characteristics of lentil (*Lens culinaris* Medik) under water stress

Ahmadpour[1], R., Armand[*1], N., Hosseinzadeh[2], S.R. & Rigi[3], G.

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Iran (ahmadpour@bkatu.ac.ir; nezam_armand@yahoo.com; respectively)
2. Department of Biology, Faculty of Sciences, Lorestan University, Khoramabad, Iran; hossinzadeh_tmu@yahoo.com
3. Department of Genetics, Faculty of Science, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran; garshasbiotech@sku.ac.ir

Received: 22 April 2017
Accepted: 9 September 2017

DOI: 10.22067/ijpr.v10i1.63836

Introduction

Lentil (*Lens culinaris* M. cv. GACHSARAN) has a high percentage of protein content, in comparison with animal protein so it is an important food source especially for people on low incomes and in developing countries. Lentil is a crop grown all over the world and is compatible with different climatic conditions; from temperate to thermal and humid to arid. Water stress is the most critical environmental factor that limits crop production. Yield reductions reported from different parts of the world caused by drought stress average at more than 50%. Responses of plants to moisture deficiency in soil are different and depend on the intensity and period of stress. These responses are of two types: 1- Moisture deficiency in low intensity leads to transpiration reduction, disruption of water translocation from roots to shoots, reduction of the photosynthetic products which ultimately lowers crop and morphological traits. 2- Moisture deficiency in high intensity that produces reactive oxygen species (ROS) in plants; it has a detrimental effect on D_1 protein of PSII, electron transport and production of high-energy molecules such as ATP and NADPH. In recent decades, bio-fertilizer appli Study on the effects of organic fertilizer such as compost demonstrated that using this fertilizer can increase nitrogen in the soil by about 42%, phosphorus by about 29% and potassium by 57% cation has become a common method for improving land affected by drought. In comparison with other organic fertilizers, compost consists of high levels of nutrients such as nitrogen, phosphorus, potassium, calcium and magnesium, as well as micronutrients such as iron, zinc, copper and manganese. Compost is rich in humic compounds and researchers speculate that the hormone-like activities of humic substances play a role in amelioration of water deficit stress. Agricultural land in Iran is facing water shortage and lentil is an economically valuable crop that has a significant role in the human diet. The aim of this study was to investigate reducing the negative effects of water stress with compost fertilizer application.

Materials & Methods

In order to evaluate the effects of compost fertilizer on physiological and biochemical indices of lentil under water stress, a factorial experiment based on completely randomized design was conducted with three replications in 2016 at the Khatam-Alanbia University of Technology. Treatments consisted of five levels compost fertilizer and soil ratio (0:100, 5:95, 15:85, 25:75 and 35:65) and three levels of water stress non-stress (75% of field capacity), moderate stress (50% of field capacity) and severe stress (25% of field capacity). The internal leaf CO_2 concentration (ppm), net-photosynthesis (μmol m^{-2} s^{-1}) and water-use efficiency (kg mm^{-1} ha^{-1}) were measured on the central sector of the youngest fully-expanded leaf and non-detached young. Measurements were performed between 9:00 and 11:00 am using a portable infrared gas analyzer (KR8700 system; Korea Tech Inc. Suwon., Korea). Evaluation of the F_v/F_m ratio was determined for lentil plants using a portable chlorophyll fluorometer (Pocket PEA, Hansatech, Instruments Ltd., King's Lynn, Norfolk, England). Proline assay was determined according to the method cited in of Bates et al. (1973). Leaf soluble protein was measured by the Lowry method. Peroxidase enzyme (EC

***Corresponding Author:** armandnezam@yahoo.com

1.11.1.7, POX) activity was measured by Holy protocol. To measure activity of catalase enzyme (EC 1.11.1.6, CAT), the Candlee & Scandalios (1984) method was used. The method cited in Beauchamp & Fridovich (1971) was applied for measuring superoxide dismutase activity (EC 1.15.1.1, SOD).

Results & Discussion

All of the physiological traits were mainly affected by severe water stress. Results showed that under non-stress, compost fertilizer application (25 and 35 Wt %) resulted in a significant increase in all studied traits. Under moderate and severe stress, application of compost (35 Wt%) significantly increased RWC (3.3%, 6.17%), Cell membrane stability (5.4%), leaf CO_2 consenteration (9.3%), net-photosynthesis (58.77%, 65.3%), WUE (12.13%, 22.47%), proline (3%), total protein (18.8%, 7.9%), POX (3.7%, 18.9%), CAT (3.7%) and SOD (1.3%, 12.5%). Compost containing high levels of nutrients, plant hormones, and with good water storage capacity leads to improved uptake of nutrients that serves to reduce the detrimental effects of drought stress. Humic and fulvic acids and other organic acids found in compost, as well as the frequency of nutrients, especially nitrogen can stimulate physiological traits.

Conclusion

In summary, due to the structural properties and mineral nutrients in compost it has several advantages compared to cultivation in the soil alone. This study demonstrated that the addition of compost to soil (25 and 35 Wt%) increased RWC, Cell membrane stability, leaf CO_2 consenteration, net-photosynthesis, WUE, proline, total protein, POX, CAT and SOD. The use of compost in the soil increased N content of soil leads to increased proline and protein biosynthesis in plants, and these compounds have the role of protecting osmosis (compatible osmolyte) in water deficit conditions. Using the ratio of 35:65 (compost:soil) presented the most effective levels of compost for reducing the negative impact of water deficit stress.

Keywords: Antioxidant enzyme activity, Environmental stresses, Net-photosynthesis, Organic fertilizers